

平成 22 年 6 月 7 日現在

研究種目：若手研究 (B)
研究期間：2007 年度 ～ 2009 年度
課題番号：19770204
研究課題名 (和文) ゼブラフィッシュ後脳における神経上皮細胞と運動神経細胞間の相互作用の解明
研究課題名 (英文) Interaction between the neuroepithelium and the motor neurons in zebrafish hindbrain
研究代表者
和田 浩則 (WADA HIRONORI)
国立遺伝学研究所・個体遺伝研究系・さきがけ研究員
研究者番号：70322708

研究成果の概要 (和文)：

表皮における側線感覚受容体 (感丘) の挙動が、神経上皮細胞層における運動神経細胞の挙動と
きわめて類似していることを見出した (Wada et al., 2008)。そこで、解析が容易な表皮細胞
と受容体細胞の関係を中心に解析を行い、感丘は、表皮細胞層の中を出芽し、新たな感丘を作り
出すこと。また、感丘パターンは、隣接する皮膚の形態形成に依存することを示した (Wada et al.,
2010)。これらの結果は、感丘と表皮細胞との相互関係が側線神経のパターン形成に重要な役割
を持つ可能性を示唆している。

研究成果の概要 (英文)：

We showed that the lateral line mechanosensory receptors, neuromasts, migrate across the epidermal cell layer, which resembles migration of the motor neurons across the neuroepithelial cell layer (Wada et al., 2008). By taking advantage of easy accessibility of the lateral line system, we revealed that the nueromast gives rise to new neuromast by a budding process. We also showed that the difference in morphogenesis of the underlying dermal bones would be sufficient to account for the corresponding difference in the lateral line pattern (Wada et al., 2010). These results suggest that the interaction between the neuromast cells and epidermal cells is important for pattern formation of the lateral line system.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,300,000	0	1,300,000
2008 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2009 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	600,000	3,900,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・発生生物学

キーワード：形態形成、細胞間相互作用

1. 研究開始当初の背景

組織間の細胞間相互作用は、器官形成のさいの重要なシグナル伝達を担っている。特に、器官形成の際の細胞移動は、発生過程において機能的に重要な形態を形作るために必要であり、様々な疾患が、その形態形成の異常に起因している。

我々は、ゼブラフィッシュ後脳における神経細胞の移動について、神経上皮細胞と運動神経細胞間の細胞間相互作用に注目して解析を行ってきた。これまでの研究からPCP遺伝子群 (Scrb1, Fz3a, Celsr2) が、神経上皮細胞と運動神経細胞の細胞間相互作用を制御することが分かった (Wada et al., 2005; Wada et al., 2006)。これらの相互作用が欠損することによって、顔面運動神経細胞は移動できなくなり、後脳に異所的な神経核を形成するため、神経パターン形成に重要な役割を担っている。ところが、後脳における運動細胞の動態は、細胞が深い位置に存在するため、解析がほとんど進んでいない (Wada and Okamoto, 2009)。そこで、より精度の高い、単一細胞レベルでの継時観察が可能な、解析系が必要であった。

2. 研究の目的

組織間の細胞間相互作用の役割を解明するためのモデルとして、側線機械刺激受容体 (感丘) に注目して解析を行った。感丘は表皮細胞層に存在し、その中を移動することから、継時観察や実験操作等の解析が容易である。そこで、ゼブラフィッシュとメダカを用いて、感丘がどのように移動し、特定の場所に定位するのか、またその際に、どのような要因がそのパターン形成に影響を与えているのかを調べた。また、体の領域や、魚種による多様な側線神経パターンがどのような仕組みによって形成されるのか、そして、それが、組織間の細胞間相互作用とどのように結びつくのかを調べた。

3. 研究の方法

(1) まず、初めに、尾鰭の感丘分布が、魚種によって著しく異なることに注目し、ゼブラフィッシュとメダカの尾鰭側線パターンの形成過程を記載した。また、他の魚種とも比較し、多様なパターンの背後にある発生機構について考察した。(2) つぎに、感丘細胞でクラゲ蛍光タンパク質 (GFP) を発現するゼブラフィッシュトランスジェニック系統を用い、その形成過程とパターン形成の解析を行った。鰓蓋に注目し、鰓蓋骨の形態

形成が、感丘の出芽に与える影響を調べた。また、鰓蓋骨の形態異常を示す、*endothelin1* 遺伝子機能阻害胚を用いて、モデルの検証を行った。

4. 研究成果

(1) 感丘は、プラコード由来の細胞が、凝集して、感丘原器を経て感丘を形成する。感丘原器、もしくは、成熟した感丘は、表皮細胞層をかき分けて、特定の位置に移動する。その様子を、ゼブラフィッシュとメダカの尾鰭を用いて、観察した。感丘の移動様式は、ゼブラフィッシュとメダカでは異なり、メダカでは成熟した感丘は移動能力を失っていると考えられた (Wada et al., 2008)。このような感丘の移動様式の違いが、魚種による側線パターンの違いを生み出していることを示唆した (Wada et al., 2008, 図1)。

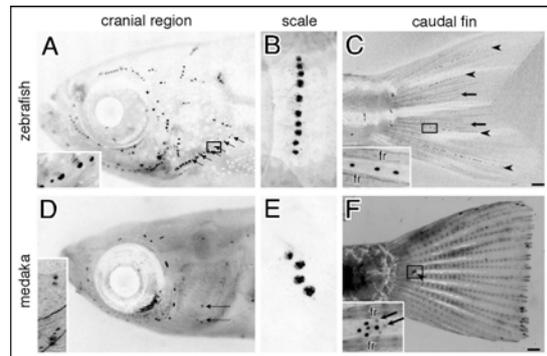


図1、ゼブラフィッシュ (上段) とメダカ (下段) における側線パターンの違い。DiAsp 試薬により感丘の有毛細胞を染色した (Wada et al., 2008 より改変)。

(2) つぎに、このような感丘の移動と定位がどのような要因によって決められているかを、鰓蓋をモデルに解析を行った。鰓蓋感丘はまず1個の感丘からなっている。この感丘は、鰓蓋骨の成長に依存して、一部の細胞が遊走し、表皮細胞の隙間を移動し、新たな感丘を形成することがわかった (これを「出芽」と呼ぶ) (Wada et al., 2010)。

次に、鰓蓋骨に異常を示す、*endothelin1* 遺伝子機能阻害胚を観察した。これらの胚では、鰓蓋骨が腹側にシフトして形成される。そのとき、鰓蓋上の2つの感丘は、異所的に生じた鰓蓋骨に対応し、決まった位置に定位することを見出した (Wada et al., 2010)。

さらに、鰓蓋以外の領域でも、隣接する皮骨の形態に相関した感丘の分布を示した。体表の感丘パターンは体表にある鱗のパターンと一致した。また、メダカでは、鰓蓋上に鱗

が存在し、鱗に従った側線パターンを示した (Wada et al., 2010)。

以上の結果は、(1) 感丘は、表皮細胞層の中を出芽し、新たな感丘を作り出すこと (図2A)。(2) また、その感丘パターンは、隣接する皮骨の形態形成に依存すること。を示している (図2B)。

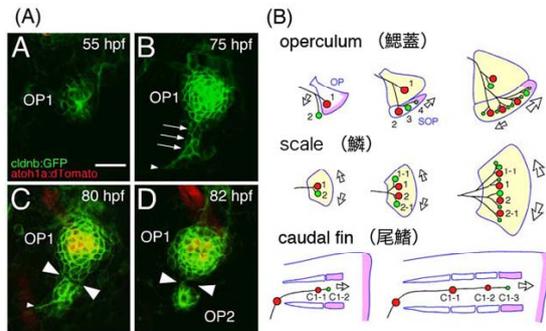


図 2、(A) *Cldn*-GFP トランスジェニック系統で、感丘の出芽の様子を調べた。鰓蓋感丘 OP1 から細胞が遊走し、新しい感丘 OP2 を形成する様子。(B) 感丘パターンと感丘が隣接する皮骨との相関関係を示す模式図。(Wada et al., 2010 より改変)

本研究によって、感丘細胞と表皮細胞の間には、相互作用が存在することが強く示唆された。感丘は、表皮細胞中を移動する。表皮の形態形成は、隣接する皮骨の形態形成に制御されていると考えられる。また、感丘の出芽の際の細胞運動は、運動神経細胞が神経上皮細胞を移動する際の挙動とよく似ている。出芽の方向や移動は、感丘細胞と表皮細胞間の、細胞間相互作用によって、制御されていることが示唆される。

哺乳類の蝸牛管の聴覚器では、PCP 遺伝子群が有毛細胞の極性を制御していることが知られている。また、表皮細胞層では、PCP 遺伝子群が、毛細胞の極性を制御していることが知られている。このことから、これらの PCP 遺伝子群が、表皮細胞と感丘間の細胞間相互作用をしている可能性が示唆される。今後、後脳運動神経細胞・神経上皮細胞との類似性から、細胞間相互作用を司る分子の実体の解明へ結びつくと考えられる。将来的には、組織同士がどのように情報を伝達し、その形態形成を制御するのかという、普遍的な仕組みに関する知見を得ることができる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (査読有、計 7 件)

(1) Wada H, Ghysen A, Satou C, Higashijima S, Kawakami K, Hamaguchi S, Sakaizumi M (2010). Dermal morphogenesis controls lateral line patterning during postembryonic development of teleost fish. *Dev. Biol.* 340, 583-594.

(2) Wada H, Hamaguchi S, Sakaizumi M (2008). Development of diverse lateral line patterns on the teleost caudal fin. *Dev. Dyn.* 237: 2889-2902.

(3) Wada H, Okamoto H. (2009) Roles of Planar Cell Polarity (PCP) Pathway Genes for Neuronal Migration and Differentiation. *Develop. Growth Differ.* 51: 233-240.

(4) Wada H, Okamoto H. (2009) Roles of Non-canonical Wnt/PCP Pathway Genes in Neuronal Migration and Neurulation in Zebrafish. *Zebrafish* 6: 3-8.

(5) Ohata S, Kinoshita S, Aoki R, Tanaka H, Wada H, Tsuruoka-Kinoshita S, Tsuboi T, Watabe S, Okamoto H (2009) Neuroepithelial cells require fucosylated glycans to guide the migration of vagus motor neuron progenitors in the developing zebrafish hindbrain. *Development*. 136:1653-63.

(6) Carreira-Barbosa F, Kajita M, Morel V, Wada H, Okamoto H, Arias A, Fujita Y, Wilson S, Tada M (2009) Flamingo regulates epibody and convergent/extension movements through cell cohesive and signaling functions during zebrafish gastrulation. *Development* 136:383-392.

(7) Tanaka H, Maeda R, Shoji W, Wada H, Masai I, Shiraki T, Kobayashi M, Nakayama R, Okamoto H. (2007) Novel mutations affecting axon guidance in zebrafish and a role for plexin signaling in the guidance of trigeminal and facial nerve axons. *Development* 134:3259-3269.

〔学会発表〕（計 4 件）

(1) **和田 浩則** 魚類における多様な側線パターン形成機構。第 115 回日本解剖学会シンポジウム 2010 年 3 月（盛岡）

(2) **和田 浩則** 魚類における多様な側線パターン形成機構、第 9 回シンポジウム「水生動物の行動と神経系」 2010 年 1 月（名古屋）

(3) **Hironori Wada.** Developmental mechanisms underlying diverse lateral line patterns in teleosts. 第 42 回日本発生生物学会・シンポジウム：「遺伝的多型性の発生学」 2009 年 5 月（新潟）

(4) **和田 浩則**、田中 英臣、中山 里実、岩崎 美樹、岡本 仁。Planar Cell Polarity (PCP) 遺伝子群の働きによって神経上皮細胞層が運動神経細胞の侵入を阻害するメカニズム。第 40 回日本発生生物学会・第 59 回日本細胞生物学会・合同大会。シンポジウム：「細胞間接着と細胞気質間接着とのクロストーク」 2007 年 5 月 28 日（福岡）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

和田 浩則 (WADA HIRONORI)

国立遺伝学研究所・個体遺伝研究系・さきがけ研究員

研究者番号：70322708